

H17/A13 細胞バイオトロニクスに関する研究(1節 共同プロジェクト研究の理念と概要, 第4章 共同プロジェクト研究)

雑誌名	東北大学電気通信研究所研究活動報告
巻	12
ページ	178-179
発行年	2006-08
URL	http://hdl.handle.net/10097/30621

細胞バイオトロニクスに関する研究

[1] 組織

代表者：篠原康雄

(徳島大学ゲノム機能研究センター)

責任者：庭野道夫

(東北大学電気通信研究所)

分担者：

片岡正俊 (徳島大学ゲノム機能研究センター)

長宗秀明 (徳島大学・工学部)

馬場嘉信 (名古屋大学大学院工学研究科)

宮崎 均 (筑波大学・生命環境科学研究科)

磯田博子 (筑波大学・生命環境科学研究科)

溝口 剛 (筑波大学・生命環境科学研究科)

石井久夫 (東北大学電気通信研究所)

木村康男 (東北大学電気通信研究所)

研究費：校費 400,000 千円、旅費 567,620 円

[2] 研究経過

バイオエレクトロニクスは 21 世紀の重要な科学技術分野の一つとみなされているが、その技術革新のためには、20 世紀に高度に発達した半導体集積回路技術と、その多様な機能が次々と解明されつつある生体化学反応系とのインテリジェントな融合を図る必要がある。この融合が実現すれば、生体情報を物理信号に変換し、また、逆に物理信号を生体系にフィードバックする高度なバイオ・インタフェイスシステムが構築でき、現在急成長しているバイオエレクトロニクスの更なる発展に貢献する。

本研究では、多重内部反射型赤外分光法を利用し、主に細胞の動的過程を、リアルタイムかつ網羅的に解析できる高度な生体計測手法の開発を目的としてスタートした。研究課題は、①膜タンパクと生体高分子(タンパク質や DNA) 相互作用をリアルタイムで検出、②細胞レベルの基本的変化(細胞周期、細胞分化、アポトーシス等)を非破壊かつリアルタイムで検出、③細胞機能に関与する低分子化合物(ATP や GTP) の濃度変化をリ

アルタイムで検出することとし、そのための具体的な技術開発項目としては、①検出感度を従来技術に比べ少なくとも 2 桁の増大、②多重計測(多サンプル計測)技術の確立、③温度や細胞培養環境などの測定環境制御法の確立、④最適な応用法の探索と実証であり、これら一連の技術を統合・集積化することにより、将来の高感度細胞チップの実現の基礎を築くことを目標とした。

当初の研究内容及び計画は以下の通りである。

赤外計測・微細加工・表面処理で十分な経験を有する東北大研究グループ、生体高分子の機能解析で先端的研究を行っている徳島大学と筑波大学研究グループが有機的に連携して、以下の研究項目について共同研究を遂行する。

(1) 細胞計測の高感度化(担当：庭野、木村、片岡、長宗、宮崎、磯田)

(2) 測定環境の制御技術の確立(担当：庭野、石井、木村)

(3) 多サンプル測定(多重測定)技術の確立(担当：庭野、木村)

(4) 細胞の Si 基板表面上局所吸着技術の確立(担当：篠原、片岡、宮崎、磯田、木村)

(5) 生体物質の赤外吸収スペクトルのデータベース構築(担当：木村、片岡、宮崎、磯田)

(6) 生体物質と細胞・膜タンパクとの相互作用の解明(担当：全員)

(7) 細胞変化のリアルタイム観察(担当：全員)

本年度は、特に、(2)と(4)に関して集中的に研究を行った。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

(1) Si 基板表面上のチトクロム c の固定化

現在、我々が目標としている赤外吸収分光法を用いたタンパク質相互作用の検出には、Si 基板表面にタンパク質を効果的に固定化する方法が必

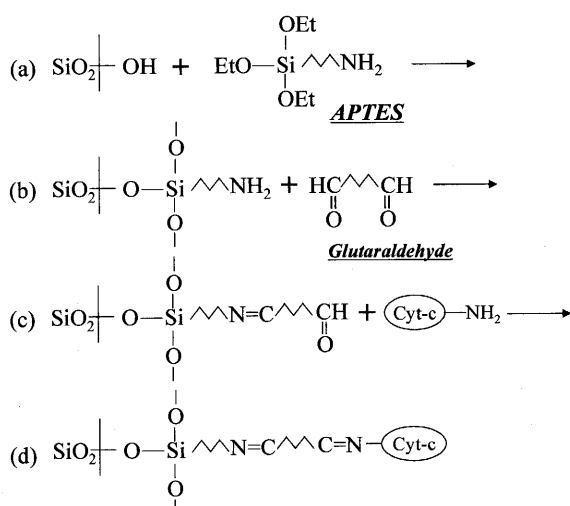


図1 Cyt-c 固定化のための Si 表面修飾.

要である。そこで、3-aminopropyl-triethoxysilane (APTES)、glutaraldehyde (GA) を用いたチトクロム c タンパク質 (Cyt-c) の Si 表面上固定化法を検証した。(図 1 参照) 表面修飾の各段階は、多重内部反射型赤外吸収分光法(MIR-IRAS)、原子間力顕微鏡(AFM)によって確認した。実験結果よりこの固定化方法は、基板表面に Cyt-c を十分な結合力で固定化できることが示された。また、赤外吸収スペクトルから固定化量を比較すると、チオール基-SH を介した固定化よりも 3 倍程度改善されたことが分かった。

今後の課題は、基板表面に固定化された Cyt-c の抗体抗原反応を赤外吸収分光法で検出することである。

(2) GaAs と Si 表面の MCF-7 細胞吸着

多重内部反射型赤外分光法による細胞変化のリアルタイム観察のためには、細胞を Si 表面あるいは GaAs 表面に活きた状態で吸着させる必要がある。細胞の活性を損なわずに表面吸着させるためには、細胞に対する適合性が優れた表面を用意しなければならない。そこで、本研究では、①GaAs 基板表面と②極薄 Si 酸化膜で被覆した GaAs 基板を用意して、付着細胞 (MCF-7) の成長の様子を顕微鏡で観察した。GaAs 基板表面上で細胞を培養し、24 時間後顕微鏡観察を実施した。

その結果、図 2 に示すように、極薄 Si 酸化膜で被覆した GaAs 基板表面上のほうが、被膜なしの GaAs 表面に比べて、細胞の成長が良好であることが分かった。

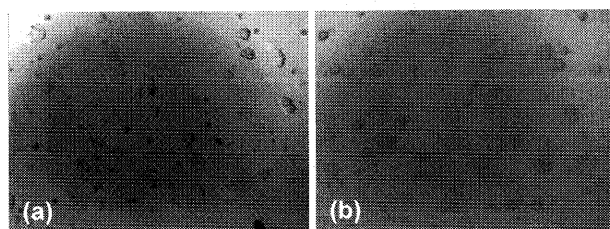


図2 (a)GaAs 基板表面と(b)極薄 Si 酸化膜で被覆した GaAs 基板上の付着細胞(MCF-7)の成長の様子.

今後の課題は、極薄 Si 酸化膜で被覆した GaAs プリズムを作製し、そのプリズム表面上で細胞を培養して、細胞のアポトーシス (細胞死) や細胞分化の様子を赤外分光でその場観察することである。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究で用いる多重内部反射赤外分光法は、研究参加者 (庭野) が 10 年以上の期間に渡って開発してきた手法で、以下のような特徴を有する。①様々な測定環境に対応できる。②室温で測定できる。③エネルギーの低い赤外線を使っているの、被測定対象に損傷を与えない。④通常の透過型の赤外分光法に比べて感度が桁違いに高い。⑤測定時間が数分程度と短いため、リアルタイム性がある。

バイオ技術の日常生活への浸透を図るためには、既存のポスト・ゲノム解析機器に加え、新たな原理に基づいた解析機器の開発が必要不可欠である。特に、本研究でその実現を目指す、細胞の機能や、細胞に生じる変化を非破壊かつリアルタイムで捉える技術は、個々の分子を標的とした解析とは異なり、細胞の全体像を把握するものとして今までにない斬新なものである。また、本研究の手法は食品の安全性や環境毒性評価への応用も期待できる。本研究の成果は、細胞レベル、分子レベルでの迅速、簡便、安価な解析手法開発に間違いなく貢献すると考える。

[4] 成果資料

応用物理学会誌に掲載した解説記事を添付する。

庭野道夫：「表面赤外分光による生体計測」応用物理 第 74 巻 第 12 号 (2005 年) 1569 頁。